

NOTE SUR DES CORPS CYTOPLASMIQUES
OBSERVABLES CHEZ *PILEA CADIEREI* GAGNEP. ET GUILLAUM.

Par Jean-Louis HAMEL.

Au début de l'année 1939, alors que j'étudiais le noyau somatique et la mitose de *Pilea Cadieriei* Gagnep. et Guillaum. (3) (4), je remarquai, en examinant des coupes traitées par la méthode de Feulgen après fixation au liquide de Helly, que le cytoplasme des méristèmes radiculaires présentait, chez cette Urticacée, des granulations colorées en rouge comme l'étaient les éléments chromatiques nucléaires. L'ensemble de ces grains rouges ressemblait au semis mitochondrial noir-violacé observable après le fixateur de Helly et la coloration à l'hématoxyline ferrique. Aussi présentai-je à la fin de juin mes préparations au professeur GUILLIERMOND qui me proposait d'étudier avec lui, au retour des vacances, ces curieux corps cytoplasmiques. Malheureusement ce fut la guerre, puis, pour moi, la captivité. Lorsque je rentrai d'Allemagne en juin 1945, j'appris avec tristesse la mort du maître à qui je devais tant. Je repris seul, alors, cette étude¹.

En voici les résultats. Toutes les coupes sont faites à 5 μ dans des racines prélevées sur des boutures de la plante cultivée dans les serres du Muséum, fixées de différentes façons, déshydratées et incluses dans la paraffine comme habituellement.

1° *Fixation au liquide de Helly.*

Après l'hydrolyse, d'abord dans l'acide chlorhydrique normal froid durant une minute, puis dans l'acide à 60° pendant 7 à 8 minutes et le retour rapide dans l'acide froid, les coupes sont laissées environ trois heures dans la solution décolorée par le métabisulfite de « Diamantfuchsine » Grüber ; elles sont ensuite traitées à l'anhydride sulfurique naissant ainsi qu'à l'ordinaire.

Le méristème radiculaire présente alors, surtout dans sa région apicale où le cytoplasme est plus dense, des granulations fortement colorées en rouge qui ressemblent tout à fait à des mitochondries.

La plupart sont en grains arrondis, certaines toutefois sont en courts bâtonnets. Elles se détachent très bien sur le fond incolore, en dehors des noyaux et mieux encore si l'on a teinté par le Vert

1. Je tiens à remercier ici M. le Professeur EICHORN, qui a bien voulu examiner mes préparations et m'éclairer de sa haute expérience dans ce domaine de la cytologie, nouveau pour moi.

lumière le protoplasme. Elles ne peuvent jamais être confondues avec les éléments chromatiques qui sont généralement plus gros et à l'intérieur de la membrane nucléaire. Les images sont identiques, peut être un peu plus contractées par le fait de l'hydrolyse sans doute, à celles observables après la coloration classique à l'hématoxyline ferrique.

Afin de voir si ces corpuscules cytoplasmiques ne sont pas colorés en rouge par simple contact avec la fuchsine sans être hydrolysés, des préparations sont mises, aussitôt après le déparaffinage, dans le réactif de Schiff. Elles n'y sont laissées que 30 à 45 minutes afin d'éviter un début d'hydrolyse possible par la présence d'acide chlorhydrique dans la liqueur. Elles sont ensuite traitées comme les préparations ordinaires. On n'observe jamais dans ce cas la moindre coloration des granulations protoplasmiques, comme il est impossible également de distinguer la chromatine nucléaire qui n'est pas teintée. D'ailleurs une préparation ayant séjourné 3 heures dans la fuchsine ne présente pas non plus d'inclusions cytoplasmiques colorées.

2° Fixation au liquide de Helly et postchromisation suivant la méthode de Parat.

Les temps d'hydrolyse et de coloration sont les mêmes que précédemment. Les granulations protoplasmiques ont même aspect dans ces préparations que dans les précédentes. Toutefois, certaines cellules montrent peu de ces corpuscules tout à fait comparables aux mitochondries colorées par l'hématoxyline, tandis que d'autres en sont au contraire surchargées. Il n'a pas été fait de préparations témoins.

3° Fixation au liquide IV de Regaud et postchromisation.

Les résultats sont sensiblement les mêmes que ceux obtenus par la méthode de Helly-Parat. La durée de l'hydrolyse à 60° est également de 8 minutes.

Des préparations-témoins n'ont pas été faites. Mais certaines coupes ont été simplement traitées, après déparaffinage, avec du Lugol. Celui-ci a bleui les plastes qui sont observables non pas au niveau de la région méristématique, mais bien au-dessus dans les coupes longitudinales. Ceci permet de voir que nos grains colorés par la méthode de Feulgen ne sont pas des plastes ni de l'amidon. BAUER (1) puis DANGEARD (2) ont signalé cette coloration possible de l'amidon par ce procédé.

4° Fixation par la méthode de Bouin-Hollande.

Il convient de laisser plus longtemps les préparations dans l'acide chlorhydrique chaud, 15 minutes par exemple et même davantage.

Pour la chromatine, les résultats les meilleurs sont obtenus après une hydrolyse de 20 minutes.

On obtient toujours la coloration des éléments cytoplasmiques qui, dans ce cas encore, sont plus contractés et par suite moins clairement visibles qu'après le fixateur de Helly. Peut-être est-ce le fait de la postchromisation dans ces trois dernières méthodes qui donne à la réaction colorée moins de netteté.

Les préparations témoins faites après cette fixation ne montrent pas de coloration aussi bien des éléments nucléaires que des éléments cytoplasmiques.

5° *Fixation au liquide de Navashin.*

Les corps cytoplasmiques colorables en rouge après une hydrolyse à 60° longue de 15 à 16 minutes, sont nets dans certaines préparations et ne le sont pas dans d'autres. Il existe d'ailleurs dans les préparations traitées à l'hématoxyline une semblable différence. Sans doute est-ce dû à une action plus ou moins marquée de l'acide acétique sur les corps. Dans les préparations témoins, il n'y a jamais de coloration.

6° *Fixation au liquide de Flemming, sans acide acétique.*

Les résultats sont comparables à ceux obtenus par la méthode de Helly-Parat. Les préparations sont hydrolysées à 60° pendant 5 minutes.

7° *Fixation par le sublimé.*

Les coupes colorées à l'hématoxyline présentent un chondriome très caractéristique. Celles traitées par la méthode de Feulgen (l'hydrolyse à chaud dure de 5 à 8 minutes) ont leur cytoplasme rempli de corpuscules fortement colorés en rouge dont l'aspect rappelle celui de chondriosomes, légèrement rétractés vraisemblablement sous l'action de l'acide chlorhydrique. Dans les préparations témoins, il n'y a aucune coloration de ces éléments ni des éléments nucléaires.

Ainsi ces corpuscules cytoplasmiques que l'on peut mettre en évidence par la méthode de Feulgen ne sont pas des plastes ; ceux-ci, en effet, ne se trouvent pas dans la même région du méristème racinaire que ceux-là, c'est ce que prouvent les préparations traitées par le Lugol. Ils ne sont pas davantage des inclusions lipidiques, telles qu'on les voit après la réaction plasmale de Feulgen et Voit¹ [dans LANGERON (6)], appliquée à des coupes faites par congélation : les liquides nécessaires pour l'inclusion dans la paraffine dissoudraient ces corps gras. Ce ne sont pas également des acétaldéhydes produites

1. Séjour dans la fuchsine décolorée sans hydrolyse préalable, après fixation au sublimé ou au formol.

par le métabolisme, car on ne peut les colorer sans les hydrolyser. On ne peut croire non plus que cette coloration soit due à la formation d'aldéhydes sous l'action des fixateurs tels que les liquides de Helly ou de Navashin, comme on a pu le penser [cf. LANGERON (5)] puisqu'on l'observe tout autant après la fixation au sublimé.

S'agit-il alors d'éléments nucléaires passés dans le cytoplasme ? Il ne semble pas. En effet, dans aucune préparation on ne voit les noyaux esquisser l'ébauche d'un bourgeonnement. De même, à la télophase, jamais on ne voit des grains chromatiques demeurer en dehors de la membrane nucléaire ; il faudrait, dans ce cas, qu'il existe une perpétuelle élaboration de substance par les chromosomes eux-mêmes pour compenser cette perte, tant est dense le semis de granulations cytoplasmiques dont l'aspect, d'ailleurs, ne rappelle en rien celui des chromocentres. On pourrait encore imaginer une diffusion de la chromatine à travers la membrane du noyau, ce qui paraît bien improbable.

Comme ces inclusions ont tout à fait l'aspect des mitochondries, s'il convient de les considérer comme telles, sans doute est-il nécessaire d'admettre qu'elle sont, à côté des composants normaux du chondriome, des éléments particuliers. Ils ne sont, en effet, pas détruits par l'acide acétique, puisqu'ils résistent au fixateur de Navashin ; ils supportent d'être hydrolysés par l'acide chlorhydrique normal à 60° ; ils sont enfin constitués par des corps ayant des réactions chimiques voisines de celles de la chromatine dont ils suivent le comportement vis-à-vis de l'hydrolyse et du réactif de Schiff.

BIBLIOGRAPHIE

1. BAUER (H.). Die feulgensche Nuclealfärbung in ihrer Anwendung auf cytologische Untersuchungen. — *Zeitschr. f. Zellf.*, 15, 224-47, 1932.
2. DANGEARD (P.). Recherches sur la structure des noyaux chez quelques Angiospermes. *Le Botaniste*, sér. XXVIII, 291-400, 1937.
3. GUILLAUMIN (A.), GAGNEPAIN (F.). Plantes nouvelles, rares ou critiques des serres du Muséum. *Bull. Muséum*, 2^e sér., t. X, 628-9, 1938.
4. HAMEL (J.). Note sur la mitose somatique d'une Urticacée nouvelle cultivée dans les serres du Muséum. *Bull. Muséum*, 2^e sér., t. XI, 271-2, 1939.
5. LANGERON (M.). Précis de microscopie, 5^e édit., 1934, Masson édit., Paris.
6. *Id.*, 6^e édit., 1942.

Laboratoire de Culture du Muséum.